

**ARZÉN, SZELÉN ÉS ROKON FÉLFÉMEK KIVÁLASZTÁSA AZ  
EPÉVEL - KÖLCSÖNHATÁSUK A GLUTATIONNAL ÉS EGYMÁSSAL**

*DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI*

Akkreditált PhD program:  
Program- és témavezető:

POTE A-144, TOXIKOLÓGIA  
Prof Dr Gregus Zoltán DABT

GYURASICS ÁGNES DR

Pécsi Orvostudományi Egyetem  
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézete

Pécs, 1999

## BEVEZETÉS

Az arzén évezredek óta ismert toxikus félfém, s ma is a mérge szinonimájaként él a köztudatban, jóllehet ősidők óta használják gyógyításra is (Frost 1967). A periódusos rendszer Va oszlopában az arzén alatti antimont és bizmutot, habár szűk a terápiás szélességük, az arzénnal egyetemben ma új, specifikus indikációkkal alkalmazzák gyógyszerként: trópusi fertőző betegségek (arzén, antimon), egyes leukémiák (arzén), ill. gyomor-bélrendszeri megbetegedések (bizmut) kezelésére.

A periódusos rendszerben az arzén után következő elem, a szelén csak 1817 óta ismert; toxicitására, majd esszenciális elem voltára pedig századunk második harmadában derült fény (Magee and James 1996). A glutation peroxidáz (Rotruck et al 1973) mellett több más kulcsfontosságú enzim proszterikus csoportja a selenocisztein, s a szelénnek szerepe lehet bizonyos daganatok kifejlődésének a gátlásában is. A szelén terápiás szélessége kicsi, s a talaj szeléntartalmától függően (mert a növények közvetítésével vesszük fel a szelént) jellegzetes hiánybetegségek (máj-, izomdegeneráció, fatális gyermekkori kardiomiopátia, megnövekedett daganatelőfordulás), ill. bőr- és neurológiai tünetekkel járó szelénintoxikáció alakulhat ki az emberen és a háziállatokon. A mostanában divatos táplálékkiegészítők véletlen vagy tudatlanságból fakadó túladagolás révén szelénintoxikáció forrásai lehetnek (Spallholz 1994, Clark RF et al 1996, Rayman 1997).

Az As, Sb és Bi, valamint a Se több hasonló kémiai tulajdonsággal rendelkeznek. Mind a négy elem több vegyértékű formában fordul elő vegyületeiben. Az Va oszlop félfémjeinek három vegyértékű formái, valamint a selenit tiol-reaktívak (Scott et al 1993, Ganther 1986). A tripeptid glutation (GSH, gamma-glutamil-ciszteinil-glicin) a szervezetben előforduló legfontosabb non-protein tiol (NPSH) (Kaplowitz et al 1985). Kulcsszerepet játszik számos elektrofil exogén vegyület, mint pl. a brómszulfalein (BSP), vagy biotranszformáció révén elektrofillá váló xenobiotikum, mint a paracetamol és a májrátok okozó aflatoxin, továbbá a szintén elektrofil fémionok, mint a Hg, Cd, valamint több endogén vegyület metabolizmusában, eliminálásában, ezáltal detoxifikálásában is (Ballatori 1994). A májban szintetizált GSH jelentős mértékben ürül az epébe, ott a hepatociták kanalikuláris felszínén elhelyezkedő  $\gamma$ -glutamil transzpeptidáz részben alkotóelemeire bontja. A GSH és tiol-csoportot tartalmazó degradációs termékei (ciszteinil-glicin és cisztein) alkotják a non-protein tiolokat (NPSH). Elektrofil vegyületek GSH konjugátumai szintén az epével ürülnek (Kaplowitz et al 1985, Gregus és Varga 1985).

Az arzén és vele rokon félfémek tiolreaktivitásuknál fogva a reagálhatnak a glutationnal. Így egyrészt ezen félfémek sorsát befolyásolhatják a GSH-homeosztázis változásai, másrészt ezek a metalloidok befolyásolhatják a GSH-anyagcserét, ezáltal interferálhatnak exogén vegyületek GSH-függő biotranszformációjával, eliminációjával, következményesen azok terápiás vagy toxikus hatásával. Ezek a

terápiás, toxikológiai és a Se esetében bizonyítottan élettani szempontokból is fontos metalloidek az epével is kiválasztódnak, biliáris exkréciójuk mechanizmusa és abban a GSH szerepe azonban vizsgálataink kezdetéig ismeretlen volt.

## **A KUTATÁS FŐ CÉLJAI**

Kutatásaink során azt kívántuk megtudni, hogy mi a szerepe a GSH-nak az arzén, antimon, bizmut és szelén hepatobiliáris transzportjában; azaz, hogy a félfémek biliáris exkréciója függ-e a GSH májbeli kínálatától és hepatobiliáris transzportjától, és viszont, hogy a félfémek befolyásolják-e a GSH kínálatát a májban, valamint hepatobiliáris transzportját. Pontosabban a következő kérdésekre kerestünk választ:

1. Milyen mértékben választódik ki az arzén, az antimon, a bizmut, valamint a szelén az epébe?
2. Befolyásolja-e a hepatikus GSH-kínálat csökkenése a vizsgált félfémek epével való kiválasztódását?
3. Befolyásolják-e a hepatobiliáris GSH transzport gátlói a fenti fémek epével való kiválasztódását?
4. Mivel a szelén biliáris exkrécióját a GSH hepatobiliáris transzportját gátló brómszulfalein paradox módon jelentősen fokozta, ezen váratlan jelenség molekuláris mechanizmusát is feltártuk.
5. Hat-e az As, Sb, Bi és a Se a GSH ill NPSH epével való kiválasztására és a hepatikus GSH-kínálatra? Befolyásolja-e az arzén a GSH-val konjugálódó vegyületek biliáris eliminációját?
6. A periódusos rendszer Va csoportjának elemei (As, Sb, Bi) és a VIa csoportba tartozó Se befolyásolják-e egymás, illetve a GSH epével való ürülését?

## **EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS**

Az alábbiakban öt téma köré csoportosítva ismertetem az eredményeket. A kapcsolódó saját publikációkra azok sorszámaival, a bennük található ábrákra pedig a közlemény és az ábra számával hivatkozom. Az eredmények ismertetése előtt, azok jobb megvilágítása céljából témánként áttekintem a legfontosabb irodalmi előzményeket.

## **I. Kapcsolat az arzén és a glutation epével való kiválasztódása között (1-3. közlemény)**

### Előzmények

*Az arzén a természetben túlnyomórészt öt vegyértékű arzenátként (AsV), kisebb részben a mérgezőbb, tiol-reaktív, három vegyértékű arzenitként (AsIII) fordul elő vegyületeiben (Squibb and Fowler 1983). Az arzenát a szervezetben részben arzenitté redukálódik (Lerman and Clarkson 1983). A szervesetlen arzén kiválasztásának egyik fő útja az epe (Gregus and Klaassen 1986).*

*Vizsgálataink előtt az arzén biliáris exkréciójának mechanizmusa, abban a hepatikus GSH-kinálat ill. a hepatobiliáris GSH-transzport jelentősége teljességgel ismeretlen volt. Ismert volt viszont, hogy az arzenit jelentősen növeli a GSH epével való kiválasztását izolált perfundált patkánymájon (Anundi et al 1982), de nem ismertük ennek a jelenségnek a mechanizmusát, összefüggését az arzén epével való exkréciójával.*

### Eredmények

#### *1. Az arzén kiválasztása az epébe*

Arzenit (AsIII) 50  $\mu\text{mol/kg}$  iv adása után az arzén kétszeres csúcsebességgel és a beadott dózis nagyobb arányában (20% vs 6%) transzportálódott az epébe az arzenáthoz képest (AsV, 150  $\mu\text{mol/kg}$  iv) (2/4, 2/5. és 3/2. ábra).

#### *2. A hepatikus GSH-depléció és a hepatobiliáris GSH-transzport gátlásának hatása az arzén biliáris exkréciójára*

A máj GSH-tartalmát depletáló dietilmaleát (DEM) gyakorlatilag megszüntette, a GSH hepatobiliáris transzportját gátló brómszulfalein (BSP) ill. indocianinzöld (ICG) pedig jelentősen (átmenetileg ill. tartósan) mérsékelte az arzén kiválasztását mind arzenit-mind arzenát-injektált patkányokban (3/2. ábra). Tehát a GSH hepatikus kínálata alapvetően meghatározza az arzén epével való kiválasztásának sebességét. Eredményeink azt is sugallják, hogy az arzén hepatobiliáris transzportjában szerepet játszhatnak a BSP-vel ill. ICG-vel gátolható transzporterek (GSH-transzporter?). Mivel az arzén biliáris exkrécióját az arzén kémiai formájától függetlenül a DEM, a BSP és az ICG is hasonlóan befolyásolta, feltételezzük, hogy az arzén mindkét arzenvegyület adása után azonos - bizonyára trivalens, azaz tiol-reaktív - formában transzportálódik az epébe.

#### *3. Az arzenit ill. arzenát hatása a GSH és az NPSH biliáris exkréciójára*

Az arzén mindkét formája dóziszfüggően, jelentősen megnövelte az NPSH és a GSH biliáris exkrécióját; 25-100  $\mu\text{mol/kg}$  arzenit injekciója után a kontroll érték 7-17-szeresére, míg 75-300  $\mu\text{mol/kg}$  arzenát adása után a kontroll 6-31-szeresére nőtt a tiolkiválasztás (1/1, 2/1. és 2/2. ábra).

#### 4. Összefüggés az arzén és az NPSH biliáris exkréciója között

A maximális arzén- és NPSH-kiválasztás időben egybeesett: arzenit adásakor közvetlenül az injekció utáni (0-20 perc), arzenát adásakor pedig a második (20-40 perc) epegyűjtési periódusban mértük mind az arzén, mind a tiolok maximális kiválasztási sebességét (2/4. és 2/5. ábra). Megállapítottuk azt is, hogy a GSH kísérletes depléciója, valamint hepatobiliáris transzportjának gátlása során is idő- és mértékbeli összefüggés mutatható ki az As és az NPSH biliáris exkréciója között (3/3. ábra). Ebből arra következtettünk, hogy az arzén GSH-val kapcsolatosan transzportálódik az epébe.

A közleményünk megjelenését követően beszámoltak arról, hogy nyúl vörösvérsejtekben az arzenit és a glutation 1:3 komplexe  $[As(GSH)_3]$  képződik (Delnomdedieu et al 1995). Ez a komplex fiziológiás pH-n viszonylag stabil, lúgos pH-n (pl. epe) azonban elbomlik. Feltételezzük, hogy a hepatocitákban is hasonló As-GSH konjugátum képződhet, ami kolefil, tehát gyorsan transzportálódik az epébe. A szimultán kiválasztódott As és tiolok mennyiségi aránya szerint egy mól arzén öt, illetve kilenc molekula GSH-t "vitt magával" az epébe arzenit ill. arzenát injekciója után. Magyarán: az epekanalikulusokban ez az instabil  $[As(GSH)_3]$  konjugátum hidrolizálódhat, s a szabadná vált arzén visszaszívódhat a kanalikulusokból a májsejtekbe. Ott az As újabb GSH-molekulákkal kapcsolódhat, mielőtt ismét kiválasztódik az epébe. Feltehetően ezzel az intrahepatikus recirkulációval magyarázható, hogy az arzén a vegyértékéből adódó koordinációs lehetőségénél több GSH molekula epébe való transzportját indukálja.

#### 5. Arzenit és arzenát hatása a máj GSH-koncentrációjára és az epébe GSH-konjugátumként ürülő xenobiotikumok kiválasztódására

A patkányok által közel egyformán tolerált 50  $\mu\text{mol/kg}$  arzenit ill. 150  $\mu\text{mol/kg}$  arzenát iv adásuk után egy órával 25%-kal ill. 37%-kal csökkentették a máj NPSH koncentrációját (2/940-941. oldal). Ez zavarta az epével részben glutationnal konjugáltan kiválasztódó xenobiotikum, a brómszulfalein (BSP) hepatobiliáris eliminációját a BSP-GSH képződésének gátlása révén (2/7. ábra).

Több fémion kiválasztása fokozódik olyan beavatkozások (pl. fenobarbitál-előkezelés) hatására, amik növelik a GSH hepatobiliáris transzportját (Ballatori and Clarkson 1985). Megvizsgáltuk ezért, hogy az arzenit és arzenát hogyan befolyásolják a merkuri-klorid, metilmerkuri-klorid, cink és kadmium biliáris exkrécióját.

Az arzenit 50  $\mu\text{mol/kg}$  ill. az arzenát 150  $\mu\text{mol/kg}$  adása csak a szerves higany biliáris exkrécióját fokozta számottevően (közel 3-szorosára) (2/6. ábra). Az arzenit egészen kis dózisa (10  $\mu\text{mol/kg}$  iv) kétszeresére növelte a metilhigany kiválasztását, de ez a hatás 50  $\mu\text{mol/kg}$  dózisban már eltűnt (1/2. ábra). Tehát az arzenit és az arzenát által kiváltott jelentős (14-szeres) biliáris GSH-exkréciót nem kísérte hasonló mértékű

növekedés a vizsgált fémek hepatobiliáris transzportjában, valószínűleg azért, mert az arzén nem a szabad, hanem az arzénhez kötött GSH hepatobiliáris transzportját növeli.

## **II. Kapcsolat az antimon és a bizmut, valamint a glutation epével való kiválasztása között (4. közlemény)**

### Előzmények

*Az antimon (stibium) és a bizmut a periódusos rendszer arzénnal azonos oszlopába tartoznak, ezért azzal kémiai rokonságot mutatnak. Mindkét elemnek az arzénhez hasonlóan van három vegyértékű, tiol-reaktív formája és szintén kiválasztódnak az epébe (Gregus and Klaassen, 1986). Nem tudtuk azonban pontosan, hogy eliminációjukban mennyire számottevő a biliáris exkréció, és van-e ebben szerepe - az arzénéhez hasonlóan - a glutationnak.*

### Eredmények

#### *1. Az antimon és a bizmut kiválasztódása az epébe*

Az antimon (50  $\mu\text{mol/kg}$  iv) hepatobiliáris transzportja rendkívül gyors (4/5. ábra). Két óra alatt a beadott antimon több, mint fele kiválasztódott az epébe – ez meghaladja minden más fém és metalloid biliáris exkréciójának mértékét. A bizmut azonban lassan ürül, két óra alatt az injektált dózis (150  $\mu\text{mol/kg}$  iv) alig két százaléka választódott ki az epébe (4/6. ábra).

#### *2. Hepatikus GSH-depléció, ill. a hepatobiliáris GSH-transzport gátlásának hatása az antimon és a bizmut biliáris exkréciójára*

A DEM-előkezelés szinte teljesen blokkolta, a BSP és az ICG pedig jelentősen mérsékelte mindkét metalloid hepatobiliáris transzportját. (4/5-6. ábra).

Az antimon és a bizmut biliáris exkréciója tehát - hasonlóan a periódusos rendszerben felettük elhelyezkedő arzénéhez - glutationfüggő.

#### *3. Az antimon és a bizmut hatása az NPSH és a GSH biliáris exkréciójára*

Mindkét metalloid dózisfüggően fokozta a tiolkiválasztást. Az antimon a kontroll érték ötvenszeresére növelte az NPSH biliáris exkréciójának csúcsebességét (4/1. ábra). Nincs tudomásunk más vegyületről, ami hasonló mértékben lenne képes fokozni a GSH biliáris exkrécióját. A bizmut a kontroll négyszereséig növelte a GSH-kiválasztást az epébe (4/2. ábra, felül).

#### *4. Összefüggés az antimon és a bizmut, valamint az NPSH biliáris exkréciója között*

Az antimon és a bizmut biliáris exkréciója időben párhuzamos, mértékben pedig arányos volt az általuk indukált tiolkiválasztással (4/5-6 és 4/1-2. ábra), továbbá egy mól antimon három, míg egy mól bizmut öt mól tiolt "vitt magával" az epébe.

Hepatitis GSH-depléció (DEM) szinte teljesen gátolta nemcsak a félfémek, hanem az NPSH egyidejű biliáris exkrécióját is (4/5-6. ábra). A GSH hepatobiliáris transzportját gátló BSP ill. ICG hatására is időben párhuzamosan változott és arányos volt a vizsgált félfémek és az NPSH kiválasztása (4/5-6. ábra).

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy az antimon és a bizmut – akár az arzén – laza glutation-komplexet képezve választódnak ki az epébe. Feltételezésünket támogatja, hogy antimon adása után patkányok epéjében találtak az antimon diglutation-konjugátumának megfelelő kromatográfiás tulajdonságú metabolitot (Bailly et al 1991).

#### *5. Az antimon és a bizmut hatásai a máj GSH-raktáira és a BSP biliáris exkréciójára*

Az antimon – feltehetően részben a hepatobiliáris GSH-exkréció számottevő indukálása révén – hatvan perc alatt közel harmadával csökkentette máj GSH-koncentrációját, míg a bizmut nem befolyásolta azt (4/4. ábra). Hasonlóan az arzénhoz, az antimon is szignifikánsan csökkentette a BSP-GSH képződését és/vagy biliáris exkrécióját, ezáltal az össz-BSP epével való kiválasztását. A bizmut viszont nem befolyásolta sem az anyavegyület, sem a glutation-konjugátum (BSP-GSH) biliáris exkrécióját (4/7. ábra).

### **III. A szelén és az Va csoport elemeinek kölcsönhatása az epével való kiválasztásukban (5. közlemény)**

#### Előzmények

*A szelén esszenciális elem, de kicsi a terápiás szélessége. Az arzén és az antimon védő hatású a táplálékból (azaz a talaj magas szeléntartalmából) eredő szelén-intoxikációban. A szelén és az arzén fokozzák egymás biliáris exkrécióját, egy feltételezett, de eddig még nem detektált közös As-Se metabolit képződése révén (Levander and Baumann 1966). Ezen megfigyelések és a korábbi kutatásaink(1-4) alapján felmerült a lehetőség, hogy a szelén az antimon és bizmut biliáris exkrécióját is fokozza és viszont. Felvetődött az is, hogy vajon ha a szelén növeli ezen metalloidok biliáris exkrécióját, akkor ezzel együtt a GSH-ürítés is fokozódik-e az epével, ill. súlyosbodik-e a félfémek okozta hepatikus GSH-depléció.*

*A szelén az oxidatív károsodások megelőzését szolgáló egyik kulcsenzimnek – a glutation peroxidáznak –, valamint a fehérje SH-csoportok oxidációját visszafordító (diszulfid-hidakat redukáló) enzimszisztéma egy tagjának – a tioredoxin reduktáznak – az aktív centruma. Az arzén és az antimon ritkábban, a bizmut viszont gyakran használatos gyógyszerként. A terápiás célból adott As, Sb és Bi megváltoztathatják a szervezetben lévő szelén eloszlását, ezáltal esetleg a szelén fiziológiás funkcióit is kedvezőtlenül befolyásolhatják. Ezért is fontos minél részletesebben ismernünk interakcióikat.*

## Eredmények

### *1. Arzenit, arzenát, antimon és bizmut hatása a szelén biliáris exkréciójára*

Az arzenát, az arzenit és az antimon 10  $\mu\text{mol/kg}$  szelenit iv adása után egy perccel injektálva azonnal és jelentősen – a kontroll közel 50-, 30-, ill. 20-szorosára – fokozta a szelén kiválasztásának maximális sebességét (5/1. ábra); vagyis hatásuk annál nagyobb volt, minél kisebb a hepatobiliáris transzportjuk a sebessége, ill. NPSH-kiválasztást fokozó hatásuk (2/4-5, és 4/5. ábra, ill. 2/4-5, és 4/5. ábra). A jelenség magyarázatát az értekezés részletesen taglalja.

Az arzénnel és az antimonnal szemben a bizmut közel harmadára csökkentette a szelénkiválasztást az epébe (5/1. ábra).

### *2. A szelenit hatása az Va oszlop félfémeinek biliáris exkréciójára*

A szelenitnek az arzén kiválasztására gyakorolt hatása – összhangban a korábbi megfigyelésekkel – kölcsönös: a szelenit az arzenittel injektált patkányokban mintegy kétszeresére, arzenáttal kezelt állatokban viszont közel nyolcszorosára növelte az arzénkiválasztás maximális sebességét (5/2. ábra). E megfigyelés alapján feltételezhető, hogy a szelenit szelenol metabolitjai (amik erős redukálószer) fokozhatják a pentavalens arzenátnak a trivalens arzenitté való redukcióját is, ami GSH-reaktív és ezért az epébe transzportálható.

Az arzénével szemben a szelenit nem befolyásolta a bizmut biliáris exkrécióját, az antimon maximális kiválasztását pedig ismeretlen mechanizmussal 34%-kal csökkentette. Lehetséges, hogy a feltételezett Sb-Se-GSH komplex kevésbé kolesfil, mint a Sb-GSH komplex.

### *3. A szelenit hatása az Va oszlop félfémei által indukált biliáris NPSH-exkrécióra*

Előző kísérleteinkben demonstráltuk, hogy az arzenit, az arzenát és az antimon biliáris exkréciójukkal arányosan igen jelentősen – a kontroll 10-30-szorosára –, míg a bizmut sokkal kisebb mértékben képes fokozni az NPSH maximális biliáris exkrécióját (2/1, 4/1-2. ábra). A szelenit, annak ellenére, hogy jelentősen fokozta az arzén kiválasztását, nem növelte tovább, sőt kb. 25%-kal csökkentette is a tiol-kiválasztás maximális sebességét (5/2-3. ábra). A szelenit ugyancsak csökkentette - közel 30%-kal - az antimon igen jelentős tiol-kiválasztást fokozó hatását (5/3. ábra, bal oldal). Figyelemre méltó, hogy mindkét metalloid esetében időben párhuzamos az NPSH-kiválasztás és a metalloidkiválasztás szelenit jelenlétében ill. hiányában (v.ö. 5/2 és 5/3. ábra, b.o.).

A szelenit önmagában nem változtatta meg a máj GSH-koncentrációját, viszont mérsékelte a vele együtt injektált arzenit, arzenát vagy antimon hepatikus GSH-t depletáló hatását (5/2. táblázat). Ezért – legalább részben – a metalloidok GSH-kiválasztást fokozó hatásának mérséklése lehet felelős (5/3. ábra).



#### 4. Arzén, antimon és bizmut hatása a szelén megoszlására

Az arzén mindkét formája igen jelentősen (negyedére) csökkentette a májban a szelén koncentrációját, míg a másik két félfém enyhén fokozta azt (5/1. táblázat). Tehát a szelén fokozott biliáris exkréciójának nem feltétele annak hepatikus felhalmozódása ill. a szelén biliáris exkréciójának jelentős fokozódása nem jár feltétlenül együtt a szelén hepatikus koncentrációjának a csökkenésével (arzén ill. antimon; 5/1. ábra és 5/1. táblázat).

Az arzén és az antimon a kontroll közel háromszorosára fokozta a szelén koncentrációját a vérben (a vörösvérsejtekben), a bizmut viszont a plazmában számottevően növelte, míg az eritrocitákban csökkentette a szelén koncentrációját (5/1. táblázat). A jelenséget az Va csoport metalloidjainak eltérő vörösvérsejt-plazma megoszlása magyarázza (Gregus and Klaassen 1986).

#### 5. Az Va oszlop félfémei és a szelenit kölcsönhatásainak lehetséges háttéréről

Az arzén illetve az antimon, valamint a GSH és a szelén időben és mértékben párhuzamosan, azaz koordinált módon ürülnek az epével (vö az 5/1, 5/2. és 5/3. ábrák megfelelő negyedeit). Ez a megfigyelés támogatja azt a feltételezést, hogy a megelőző kísérletek (lásd I. és II. rész) alapján valószínűsített metalloid-GSH konjugátumba beépül egy szelenol (R-SeH) jellegű szelenmetabolit, kolefil hármas konjugátumot (As-Se-GSH; Sb-Se-GSH) alkotva.

Közleményünk (5) elfogadását követően, a Society of Toxicology kongresszusán számoltak be arról, hogy a feltételezett As-Se-GSH komplex valóban képződik vörösvérsejtekben *in vitro*, arzenit, szelenit és GSH jelenlétében (Gailer and Aposhian 1998). Így direkt megfigyelés is kiegészíti az állatkísérleteink által szolgáltatott közvetett bizonyítékot az ilyen komplexek létezésére.

A gyorsan ürülő arzén és antimon a hármas komplex képzése révén fokozhatja a lassan kiválasztódó szelén biliáris exkrécióját szelenittel injektált patkányokban. A szelenitből képződött szelenolok redukálhatják, ill. redukált formában (AsIII) tarthatják az arzént. A hármas komplex képződése mellett az értekezésben kifejtett módon ez a mechanizmus is szerepet játszhat a szelenitnek az arzén biliáris exkrécióját fokozó hatásában. Mindezen kölcsönhatások révén a szelén és az Va oszlop félfémei módosíthatják egymás farmakológiai, toxikus és élettani hatásait. A szelén komplexálásával ill. kiválasztásának jelentős mértékű fokozásával az arzén és az antimon például csökkenthetik a szelén hozzáférhetőségét a szelenoenzimek szintéziséhez, ezáltal gátolhatják pl. a glutation peroxidáz fiziológiás funkcióit.

#### IV. A glutation és a metiláció szerepe a szelén biliáris exkréciójában (6. közlemény)

##### Előzmények

A szelenit metabolizmusának sok részletét ismerjük (Ganther 1986; 7/9. ábra). A folyamatban a GSH több lépésben redukálja a szelenitet, mialatt a Se (+4) vegyértéke (-2)-re változik. Eközben glutationt is és szelént is tartalmazó vegyületek képződnek: először szelenodiglutation (GS-Se-SG), majd glutationil-szelenol (GS-Se-H), végül pedig hidrogén-szelenid (H-Se-H). A hidrogén-szelenid több lépésben metilálódhat, ennek során az igen reaktív metilszelenol ( $\text{CH}_3\text{-Se-H}$ ), majd a kilélegezhető dimetilszelenid ( $\text{CH}_3\text{-Se-CH}_3$ ), és a vizelettel ürülő trimetilszelenónium ion [ $\text{CH}_3\text{-Se}^+(\text{CH}_3)_2$ ] képződik.

Bár tudjuk, hogy a szelén az epébe is kiválasztódik (Gregus and Klaassen 1986), nem volt ismert eddig, hogy milyen formában. Az sem volt ismert, hogy a fenti metabolikus folyamatok befolyásolják-e a szelén epével való kiválasztását. Előző vizsgálataink (3, 4) szerint az ICG és a BSP nemcsak a GSH transzportját gátolta, hanem az arzén, az antimon és a bizmut epébe való kiválasztását is. Felmerült a kérdés, hogy vajon a hepatobiliáris GSH-transzporter és a metiláció gátlói csökkentik-e a szelén epébe való kiválasztását is.

##### Eredmények

###### 1. A szelén biliáris exkréciójának jellemzői; az epébe ürülő szelénmetabolit

A szelén hepatobiliáris transzportja lassúbb, mint az eddig vizsgált metalloideké; már alacsony szelenit-dózisoknál (5-10  $\mu\text{mol/kg}$  iv) maximumot ér el, részesedése pedig a szelén eliminációjában a szelenit dózisának növelésével csökken: 1  $\mu\text{mol/kg}$  iv szelenit 16%-a, míg 10  $\mu\text{mol/kg}$  iv szelenit 3%-a választódott ki az epébe két óra alatt (6/6. ábra, Se jelzésű görbék).

Az utóbbi jelenség összefüggésbe hozható azzal a ténnyel, hogy a szelenit dózisának emelkedésével annak egyre nagyobb része eliminálódik a tudón keresztül volatilis dimetilszelenid formájában (Hirooka and Galambos 1966). Igen valószínű, hogy a dimetilszelenid képződése nem kedvez a szelén hepatobiliáris transzportjának, ezért kisebb arányú a nagyobb szelenitdózisok adása után a szelén epébe való kiválasztása. Ezt a vélekedést alátámasztják a metiláció kísérletes gátlásával nyert megfigyeléseink is (1. alább).

HPLC analízissel a szelenittel injektált patkány epéjében változatlan, nem metabolizálódott szelenitet nem detektáltunk. Találtunk viszont egy olyan szelénmetabolitot, aminek a kromatográfiás tulajdonságai megegyeztek az *in vitro* szintetizált szelenodiglutationéval. Eszerint a nátrium-szelenit formájában injektált szelén szelenodiglutation (GS-Se-SG) formájában választódik ki az epével (6/2. ábra).

### *2. A GSH és a metiláció szerepe a szelén biliáris exkréciójában*

A máj GSH-tartalmának depléciója DEM ill. BSO előkezelés hatására 80 ill 60 %-kal csökkentette a szelén epébe való kiválasztását (6/1. ábra). A metilációt gátló PAD ill. etionin előkezelés viszont közel kétszeresére növelte a kiválasztást (6/3. ábra). A májbeli GSH hozzáférhetősége tehát elősegíti, a metiláció pedig hátráltatja a szelén epébe való kiválasztását.

A szelenit biotranszformációjának ill. az epébe transzportálódó, általunk valószínűsített fő formájának ismeretében megfigyeléseinket azzal magyarázhatjuk, hogy a hepatikus GSH depléciója csökkenti a szelenit GSH-igényes átalakulását szelenodiglutationná (7/9. ábra). Így gátlódik a kolefil szelénmetabolit képződése, s lassul a szelén biliáris exkréciója BSO ill. DEM előkezelés hatására. A kezdeti GSH-igényes reakciók után a szelenit metilációs lépéseken át metabolizálódik tovább. Eredményeink arra utalnak, hogy a metiláció gátlásával (PAD, etionin) lassul a GS-Se-SG metabolikus eliminációja, ezért több GS-Se-SG maradhat a hepatocitákban, s transzportálódhat onnan az epébe.

A hepatobiliáris GSH-transzportot gátló ICG nem befolyásolta a szelénexkréciót (6/4. ábra), ami arra utal, hogy a hepatobiliáris GSH transzporter nem vesz részt, vagy nem sebességmeghatározó a szelén hepatobiliáris transzportjában. Váratlan megfigyelésünk volt, hogy a szintén GSH-transzportot gátló BSP sokszorosára növelte a szelén biliáris exkrécióját szelenittel injektált patkányban (6/4. ábra). Ez utóbbi jelenség ellentétes volt a félfémekkel és BSP-vel szerzett eddigi tapasztalatainkkal (lásd I-II. rész). Ezért tovább elemeztük a BSP paradox hatását a Se biliáris exkréciójára.

### *3. A BSP hatása a szelén biliáris exkréciójára – szokatlan dózis-hatás összefüggés*

A BSP (25–200  $\mu\text{mol/kg}$  iv) dózisfüggően, igen jelentősen (maximálisan a kontroll hússzorosáig) fokozta a Se epébe való kiválasztását, ám ennek mértéke függ a szelenit dózistól. Nevezetesen, minél nagyobb volt a szelenit dózisa, annál jobban fokozta a BSP a szelén biliáris exkrécióját, azaz 1, 2,5, 5 ill. 10  $\mu\text{mol/kg}$  Na-szelenit injekciója után 50  $\mu\text{mol/kg}$  BSP-t injektálva a szelénkiválasztás a kontroll értékek 5-, 8-, 12- ill 18-szorosára nőtt (6/6. ábra).

*Összefoglalva:* a periódusos rendszerben az arzént követő elem, a szelén szerkezeten belüli sorsában kisebb szerepe van a biliáris exkréciónak, mint az arzén és az alatta elhelyezkedő antimon esetében. Az Va oszlop metalloidjaihoz hasonlóan a szelén epével való kiválasztásához is hepatikus GSH szükséges. Az Va oszlopbeli metalloidoktól eltérően azonban a hepatobiliáris GSH-transzporter gátlói nem csökkentik – sőt a BSP számottevően fokozza – a szelén kiválasztását. Míg a szelenit GSH-val való reakciója elősegíti, addig metilációja hátráltatja a szelén biliáris exkrécióját.

## V. Miért fokozza a brómszulfalein a szelén epével való kiválasztását? (7. közlemény)

### Előzmények

Mivel a szelén biológiailag igen fontos elem, a BSP-nek a a szelén biliáris exkrécióját jelentősen fokozó hatása közvetve elméleti és gyakorlati jelentőségű is lehet. Egyrészt ezen keresztül közelebbről megismerhetjük a szelenit sorsát a szervezetben, valamint a szelén antitoxikus és antikancerogén hatásának a mechanizmusát. A szelenitnek a szervezeten belül ugyanis különböző metabolitokká kell átalakulnia, hogy érvényesülhessen élettani szerepe (esszenciális elem: szelenocisztein-szelenoproteinek), valamint antikancerogén (aflatoxin-májcarcinóma gyakoriságát csökkentő), antitoxikus (nehézfémekkel, ciszplatinnal szemben) ill. toxikus (túlzott bevétel) hatása (Ganther 1986, Lu et al 1995). Másrészt, a szelén biliáris transzportjának növelése a szervezeten belülről való elimináció fokozásának, tehát a szelén detoxikálásnak az egyik útja lehet, amit akut szelénintoxikáció kezelésében lehetne hasznosítani (manapság divattá vált szelént szedni, s kicsi a terápiás szélessége!).

### 1. A BSP és analóg vegyületeinek hatása a szelén biliáris exkréciójára

A DBSP és a BSP-GSH a BSP nem elektrofil analógjai, és a BSP-hez hasonlóan kolefil vegyületek (7/1. ábra). Megállapítottuk, hogy sem a DBSP, sem pedig a BSP-GSH nem befolyásolták a szelén epébe való kiválasztását (7/2. ábra). Ez alapján adódott a feltételezés, hogy az elektrofil BSP közös metabolitot képez a szelén nukleofil metabolitjaival s így együtt ürülnek az epébe. Valóban, BSP- plusz szelenit-injektált állatok épít a HPLC-vel sorba kapcsolt radioaktivitás és abszorbancia detektorokkal analizálva, találtunk olyan vegyületeket (X és Y), amiket mindkét detektor egyidejűleg jelzett (7/3. ábra), azaz [<sup>75</sup>Se]-t is és a BSP-re jellemző szerkezetet is tartalmaztak.

### 2. A BSP és a szelenit-metabolitok in vitro reakciótermékeinek kromatográfiás analízise

A szelenit metabolizmusa során három nukleofil vegyület – glutation-szelenoperszulfid (GS-Se-H), hidrogénszelenid (H-Se-H) és metilszelenol (CH<sub>3</sub>-Se-H) – is keletkezik, amik reagálhatnak az elektrofil BSP-vel. A BSP és a metilszelenol in vitro reakciója olyan terméket adott, ami kromatográfiásan nem különíthető el az epében kimutatott, általunk X-nek jelölt vegyülettől (7/4. ábra). Ezért feltételezzük, hogy az X vegyület a BSP és a metilszelenol reakcióterméke.

A BSP-t és a nátrium-szelenitet különböző tiolok (pl. GSH) jelenlétében in vitro reagáltatva a tiol és a szelenit reakciója eredményeként a megfelelő szelenoperszulfid, valamint H-Se-H képződik (l. a 7/9. ábrát), s ezek reagálhatnak a BSP-vel. Olyan vegyület(ek) képződését mutattuk ki, amik kromatográfiás tulajdonságai megfeleltek az epében általunk Y-nak jelölt vegyület(ek)ének. Mivel az in vitro reakcióban az Y vegyület(ek) mindig képződtek attól függetlenül, hogy melyik tiol (GSH, Cys-Gly,

Cys) volt a redukálószer, valószínű, hogy a keletkezett Y jelű BSP-Se közös metabolit nem tartalmaz tiol-maradványt és így az Y a BSP és a hidrogénszelenid közös vegyülete.

### *3. A metiláció szerepe a BSP szelénkiválasztást fokozó hatásában*

A szelenit metilációját gátló PAD- ill. etionin-előkezelés nem befolyásolta számottevően a BSP hatását a szelén biliáris exkréciójára, azaz a szelén összkiválasztása nem változott a metiláció gátlásakor (7/5. ábra).

Az epeminták HPLC-analízise azonban jelentős változást mutatott a BSP-Se közös metabolitok arányát illetően (7/6-7. ábra). Mindkét metilációgátló hatására igen jelentősen (90%) megkisebbedett a BSP és a metilszelenol reakciótermékének megfelelő X csúcs. PAD hatására emellett megnőtt az Y csúcs, ami feltehetően a BSP és a hidrogénszelenid reakciójakor képződött termék(ek) (7/6. ábra). Etioninnal gátolva a metilációt változatlan Y csúcs mellett megjelent egy új csúcs (E) mindkét detektor kromatogramjában (7/7. ábra). Az E csúcstról feltételezzük, hogy a BSP és egy etilált szelénmetabolit (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-Se-H?) közös termékének felel meg.

### *4. A BSP hatása a szelén tüdőn át való eliminációjára*

Miközben a BSP sokszorosára növelte a szelén biliáris exkrécióját, szignifikánsan csökkentette a szelén légutakon keresztüli kiválasztódását dimetilszelenid formájában. Mivel a BSP-vel reagáló nukleofil szelenitmetabolitok egyben a volatilis dimetilszelenid prekursorai, így a BSP metabolikusan eliminálja a szelén egy részét, mielőtt abból a légutakon keresztül kiválasztódó dimetilszelenid képződhetne.

*Összefoglalva:* a BSP azért fokozza a szelén biliáris exkrécióját szelenittel injektált patkányban, mert a szelenit nukleofil metabolitjaival közös metabolitokat képez, ezek pedig sokkal jobban választódnak ki az epével, mint a szelenit epében megjelenő metabolitja, a szelenodiglutation.

## ÖSSZEFOGLALÁS

*Legfontosabb megfigyeléseinket röviden az alábbiakban foglalom össze:*

1. A periódusos rendszer Va oszlopába sorolt As és Sb nagy, a Bi mérsékelt, míg a VIa oszlopba tartozó Se kis sebességgel választódik ki az epével.

2. Az As, az Sb és a Bi hepatobiliáris transzportja szorosan, a Se biliáris exkréciója pedig több szempontból összefügg a szervezet GSH-homeosztázisával. Ezt a következtetést az alábbi észrevételeinkre alapozzuk.

a. A májbeli GSH depléciója az Va oszlop elemeinek kiválasztását gyakorlatilag megszünteti, a Se kiválasztását is jelentősen csökkenti.

b. A hepatobiliáris GSH-transzporter gátlói (ICG, BSP) nemcsak a GSH-kiválasztást, hanem az As, az Sb és a Bi hepatobiliáris transzportját is gátolják. Ezen transzporter blokkolói viszont nem csökkentik a Se epével való kiválasztását.

c. Az As és a Sb dózisfüggően, igen jelentősen fokozzák a GSH epével való kiválasztását, ezáltal csökkentik a máj GSH-tartalmát.

d. Az As, az Sb és a Bi, valamint a GSH általuk indukált biliáris exkréciója időben párhuzamos lefutású, mértékben pedig arányos.

e. Kísérleti eredményeink közvetve arra utalnak, hogy az As, az Sb és a Bi a GSH-val kémiai asszociáltn – instabil konjugátumot képezve – ürülnek az epével és ezáltal növelik a GSH biliáris exkrécióját.

f. Kromatográfiás bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy a szelenit szelenodiglutation formájában transzportálódik az epébe.

3. Az Va oszlop elemei és a szelén a szervezetben direkt kémiai kölcsönhatásba lépnek, ezáltal:

a. az arzén és az antimon igen jelentősen fokozzák a szelénkiválasztást,

b. a szelén fokozza az arzén epével való kiválasztását annak kémiai formájától függő mértékben.

4. A BSP igen jelentősen növeli a szelén biliáris exkrécióját, mert elektrofil sajátága révén közös metabolitot képez a szelenit nukleofil metabolitjaival, a képződött BSP-szelén metabolitok pedig gyorsan ürülnek az epével.

## *Megfigyeléseink jelentőségét a következőkben látom:*

1. Állatkísérleteink hozzájárultak ahhoz, hogy megismerjük az As, Sb, Bi és Se biliáris exkréciójának mechanizmusát és limitáló tényezőit. Megállapítottuk, hogy az As, Sb, Bi és Se biliáris eliminációjának sebességét elsődlegesen a máj GSH kínálata határozza meg, valószínűleg azért, mert ezek az elemek csak GSH-val kapcsolt formában ürülhetnek az epével. Az As, Sb és Bi biliáris exkréciója másodsorban függ egy BSP-vel ill ICG-vel gátolható transzporter (epekanalikuláris GSH-transzporter?) aktivitásától is.

2. Megállapítottuk, hogy az Va oszlop elemei GSH-felhasználás révén csökkentik a máj GSH-tartalmát. Mivel interferálhatnak a máj GSH-homeosztázisával, hatásukra sérülhet az oxidatív károsodások, valamint a toxikus ill. karcinogén xenobiotikumok elleni GSH-függő védelem a szervezetben. E következményekkel számolni kell pl. az arzénnek, az antimonnak és a bizmutnak gyógyszerként használatos vegyületei alkalmazásakor, ill. nagy arzéntartalmú ivóvízzel ellátott területeken.

3. Kimutattuk, hogy az Va oszlop elemei jelentősen beavatkoznak a szelén szervezeten belüli sorsába. Ezáltal csökkenthetik az endogén szelénkészletet, és az esszenciális szelén elérhetőségét a kulcsfontosságú szelenoproteinek (pl. glutation peroxidáz, tioredoxin reductáz, jodotironin deiodináz) szintéziséhez. Ezért felmerül a lehetőség, hogy a tartós As- vagy Sb-tartalmú gyógyszeres kezelés (tripanoszomiázis ill. leishmaniázis) során fellépő mellékhatások egy részének a terápia következtében kialakult szelénhiány lehet a hátterében.

4. Kísérleteinkben egy szerves elektrofil vegyületről, a BSP-ről kimutattuk, hogy az exogén szelenit szervezetben képződött nukleofil metabolitjaival kovalens reakcióba lép. Eddig is ismert volt a szelén védő hatása egyes szerves elektrofil vegyületekkel szemben, mint a toxikus nehézfémek (Cd, Hg), a daganatgátló fémkomplex ciszplatin, vagy a periódusos rendszer Va oszlopába tartozó arzén és antimon. Mivel számos karcinogén ill. toxikus vegyület elektrofil, vagy elektrofil metabolitot képez, felmerül a kérdés, hogy a szelenit antikarcinogén hatásában szerepet játszhat-e – a BSP és szelén kölcsönhatásával analóg módon – a *nukleofil szelenitmetabolitok és az elektrofil karcinogének közötti reakció*. E kérdés megválaszolását célzó kísérleteink folyamatban vannak.

5. Megfigyeléseink – miszerint a periódusos rendszer Va oszlopába tartozó elemek valamint a BSP igen jelentősen fokozzák a szelén biliáris exkrécióját és a szervezetből való eliminációját – hozzásegíthetnek a szelénintoxikáció racionális kezelésében alkalmazható antidótum kifejlesztéséhez. Ennek fontosságát alátámasztja az a

tapasztalat, hogy napjainkban az egyre elterjedtebb táplálékkiegészítők szedéséből eredő véletlen (gyártási hiba), vagy a dózis helytelen ismeretéből adódó krónikus, de akár akut szelénintoxikációval is találkozhat a gyakori orvos.

## IRODALOMJEGYZÉK

### I. Az értekezés elkészítésének alapjául szolgáló saját közlemények

1. Gyurasics Á and Gregus Z, Effect of arsenicals on biliary excretion of endogenous non-protein thiols, mercurials and sulfobromophthalein. *Arch Toxicol Suppl* 13: 340-342, 1989.
2. Gyurasics Á, Varga F and Gregus Z, Effect of arsenicals on biliary excretion of endogenous glutathione and xenobiotics with glutathione-dependent hepatobiliary transport. *Biochem Pharmacol* 41: 937-944, 1991.
3. Gyurasics Á, Varga F and Gregus Z, Glutathione-dependent biliary excretion of arsenic. *Biochem Pharmacol* 42: 465-468, 1991.
4. Gyurasics Á, Koszorús L, Varga F and Gregus Z, Increased biliary excretion of glutathione is generated by glutathione-dependent hepatobiliary transport of antimony and bismuth. *Biochem Pharmacol* 44: 1275-1281, 1992.
5. Gregus Z, Gyurasics Á and Koszorús L, Interactions between selenium and group Va metalloids (arsenic, antimony and bismuth) in the biliary excretion. *Environ Pharmacol Toxicol* 5: 89-99, 1998.
6. Gyurasics Á, Perjési P and Gregus Z, Role of glutathione and methylation in the biliary excretion of selenium. The paradoxical effect of sulfobromophthalein. *Biochem Pharmacol*, 56: 1381-1389, 1998.
7. Gregus Z, Gyurasics Á and Perjési P, Enhancement of selenium excretion in bile by sulfobromophthalein: elucidation of the mechanism. *Biochem Pharmacol*, 56: 1391-1402, 1998.

### II. A tézisekhez felhasznált irodalom

- Anundi I et al, GSH release in bile as influenced by arsenite. *FEBS Lett* 145: 285, 1982.
- Bailly R et al, Experimental and human studies on antimony metabolism: their relevance for the biological monitoring of workers exposed to inorganic antimony. *Br J Ind Med* 48: 93, 1991.
- Ballatori N, Glutathione mercaptides as transport forms of metals. *Adv Pharmacol* 27: 271, 1994.



- Clark RF et al, Selenium poisoning from a nutritional supplement. *JAMA* **275**: 1087, 1996.
- Delnomdedieu M et al, Time dependence of accumulation and binding of inorganic arsenic species in rabbit erythrocytes. *Chem-Biol Interact* **98**: 69, 1995.
- Frost DV, Arsenicals in biology – retrospect and prospect. *Fed Proc* **26**: 194, 1967.
- Gailer J, Aposhian HV, The detection of a novel arsenic-selenium compound. *Toxicol Sci* **42**(1-S): 322, 1998.
- Ganther HE, Pathways of selenium metabolism including respiratory excretory products. *J Am Coll Toxicol* **5**: 1, 1986.
- Gregus Z, Varga F, Role of glutathione and hepatic glutathione S-transferase in the biliary excretion of methylmercury, cadmium and zinc: a study with enzyme inducers and glutathione depletors. *Acta Pharmacol Toxicol* **56**: 398, 1985.
- Gregus Z, Klaassen CD, Disposition of metals in rats: a comparative study of fecal, urinary, and biliary excretion and tissue distribution of eighteen metals. *Toxicol Appl Pharmacol* **85**: 24, 1986.
- Hirooka T, Galambos JT, Selenium metabolism I. Respiratory excretion. *Biochim Biophys Acta* **130**: 313, 1966.
- Kaplowitz N et al, The regulation of hepatic glutathione. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **25**: 715, 1985.
- Lerman S, Clarkson TW, The metabolism of arsenite and arsenate by the rat. *Fundam Appl Toxicol* **3**: 309, 1983.
- Levander OA, Baumann CA, Selenium metabolism VI. Effect on arsenic of the excretion of selenium in the bile. *Toxicol Appl Pharmacol* **9**: 106, 1966.
- Lu X et al, Dissociation of the genotoxic and growth inhibitory effects of selenium. *Biochem Pharmacol* **50**: 213, 1995.
- Magee RJ, James BD, Selenium. In: *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*, p551. Eds Seiler H, Sigel A, Sigel H, Marcel Dekker, Inc, New York, Basel, Hong Kong, 1996.
- Rayman MP, Dietary selenium: time to act. *Br Med J* **314**: 387, 1997.
- Rotruck JT et al, Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase, *Science* **179**: 588, 1973.
- Scott N et al, Reactions of arsenic(III) and arsenic(V) species with glutathione. *Chem Res Toxicol* **6**: 102, 1993.
- Squibb KA, Fowler BA, The toxicity of arsenic and its compounds. In: *Biological and Environmental Effects of Arsenic*, p233. Ed Fowler, BA, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983.
- Spallholz JE, On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. *Free Rad Biol Med* **17**: 45, 1994.

### III. Kongresszusi előadások és poszterbemutatók az értekezéshez kapcsolódó eredményekről

#### Előadások

1. Gyurasics Á, Gregus Z, Effect of arsenicals on biliary excretion of endogenous non-protein thiols, some mercurials and sulfobromophthalein. EUROTOX XXIX. Congress, Munich, Germany, 1988.
2. Gyurasics Á, Gregus Z, Kapcsolat a glutation és az arzén, antimon valamint a bizmut epével való kiválasztása között. XXI. Membrán Transzport Konferencia, Sümeg, 1991.
3. Gyurasics Á, Koszorús L, Gregus Z, A glutation szerepe az arzén, antimon és bizmut hepatobiliáris transzportjában. Magyar Élettani Társaság LVII. Vándorgyűlése, Pécs, 1992.
4. Gyurasics Á, Gregus Z, Hasonlóságok és eltérések az arzén és a szelén biliáris exkréciójában. Magyar Toxikológusok Egyesülete TOX'96 Konferencia, Balatonfüred, 1996.
5. Gregus Z, Gyurasics Á, Perjési P, Miért fokozza a szelén biliáris exkrécióját a brómszulfalein? Magyar Toxikológusok Egyesülete TOX'96 Konferencia, Balatonfüred, 1996.
6. Gyurasics Á, Perjési P, Gregus Z, Role of glutathione and methylation in the biliary excretion of selenium. The paradoxical effect of sulfobromophthalein. Third International Conference of the Hungarian Biochemical Society, Pécs, 1997.
7. Gyurasics Á, Perjési P és Gregus Z, A glutation és a metiláció szerepe a szelén biliáris exkréciójában – a brómszulfalein paradox hatása. Farmakokinetika és Gyógyszermetabolizmus Konferencia. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Mátraháza, 1998.
8. Gregus Z, Gyurasics Á és Perjési P, Kolefil BSP–Se metabolitok képződése felelős a brómszulfalein szelénkiválasztást fokozó hatásáért. Farmakokinetika és Gyógyszermetabolizmus Konferencia. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Mátraháza, 1998.
9. Gyurasics Á, Koszorús L and Gregus Z, Interactions between selenium and group Va metalloids (arsenic, antimony and bismuth) in the biliary excretion. 6th Joint Meeting of the Italian, Polish and Hungarian Pharmacological Societies, Pisa, Italy, 1998.
10. Gyurasics Á, Gregus Z, Szervetlen és szerves arzénvegyületek kiválasztása az epébe. Magyar Toxikológusok Egyesülete TOX'98 Konferencia, Dobogókő, 1998.
11. Gregus Z, Gyurasics Á, Trimelarsan és melarsoprol metabolitok az epében - részleges GSH-függő biliáris exkréciójuk háttere. Magyar Toxikológusok Egyesülete TOX'98 Konferencia, Dobogókő, 1998.

## Poszterek

1. Gyurasics Á, Gregus Z, Effects of arsenicals on biliary excretion of endogenous non-protein thiols and xenobiotics undergoing conjugation with glutathione. VIII. International Symposium on Drug Toxicity, Berlin, Germany, 1988.
2. Gyurasics Á, Gregus Z, Arzénvegyületek hatása a glutation és fémek kiválasztására. Magyar Élettani Társaság LIV. Vándorgyűlése, Debrecen, 1989.
3. Gyurasics Á, Gregus Z, Biliary excretion of arsenic, antimony and bismuth: the role of glutathione. 3rd Joint Meeting of Hungarian, Italian and Polish Pharmacological Societies, Modena, Italy, 1992.
4. Gyurasics Á, Perjési P, Gregus Z, Role of glutathione and methylation on the biliary excretion of selenium. The paradoxical effect of sulfobromophthalein. 35th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Seattle, WA, 1998.
5. Perjési P, Gyurasics Á, Gregus Z, Why does sulfobromophthalein (BSP) enhance the biliary excretion of selenium? 35th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Seattle, WA, 1998.
6. Gregus Z, Gyurasics Á and Perjési P, Selenite metabolites react in vivo with sulfobromophthalein (BSP) to form cholephilic BSP-Se metabolites. VIII. International Congress of Toxicology, Paris, 1998.
7. Gyurasics Á, Perjési P and Gregus Z, Glutathione-dependent biliary excretion of selenium is enhanced paradoxically by sulfobromophthalein. VIII. International Congress of Toxicology, Paris, 1998.

## RÖVIDÍTÉSEK, VEGYJELEK:

arzén (As), arzenit (AsIII), arzenát (AsV), antimon (Sb), bizmut (Bi)

glutation (GSH), non-protein tiol (NPSH), cisztein (Cys), ciszteinil-glicin (Cys-Gly)

brómszulfalein (BSP), indocianinzöld (ICG), dibrómszulfalein (DBSP)

BSP-GSH konjugátum (BSP-GSH)

dietilmaleát (DEM), butionin-szulfoximin (BSO)

perjodát oxidált adenzin (PAD)

szelenodiglutation (GS-Se-SG), glutation-szelenoperszulfid (GS-Se-H)

hidrogénszelenid (H-Se-H), metilszelenol (CH<sub>3</sub>-Se-H)

trimetilszelenónium ion [CH<sub>3</sub>-Se<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]